

Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 08094603
PUBLICATION DATE : 12-04-96

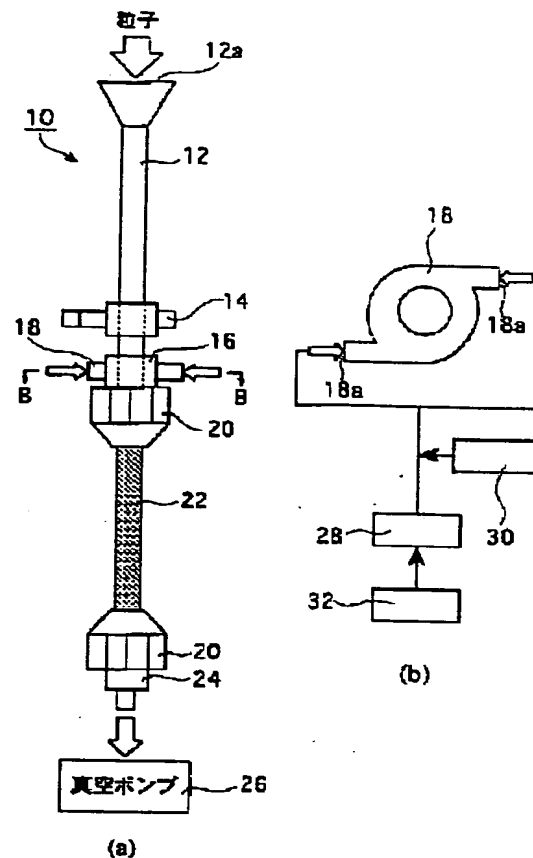
APPLICATION DATE : 26-09-94
APPLICATION NUMBER : 06229348

APPLICANT : NISSHIN FLOUR MILLING CO LTD;

INVENTOR : SHINODA EIJI;

INT.CL. : G01N 30/56

TITLE : CHARGING METHOD FOR COLUMN
FOR LIQUID CHROMATOGRAPHY



ABSTRACT : PURPOSE: To fill column for liquid chromatography by supplying a specific amount of filler powder in a powder supplier, sucking the column inside from the other end of the column for depressurizing to specified vacuum pressure, opening a valve instantaneously, filling the column with the filler powder from the supply part, and tapping predetermined times.

CONSTITUTION: Filler powder supplied to a powder supply part 12 connected with the column 22 by way of a valve 14 is quickly filled in a column 22 by opening the valve 14 after attaining a vacuum state in the column 22. By repeating the tapping, whole column 22 is filled with the filler powder. Or in continuously charging the column 22 with the filler powder using a powder supply feeder 30, the filler powder is discharged. By this, uniform filling with high density is possible and the column 22 can be filled repeatedly and highly stably.

COPYRIGHT: (C)1996,JPO

EP 0429000 2

C2

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-94603

(43) 公開日 平成8年(1996)4月12日

(51) Int.Cl.⁶

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

G 0 1 N 30/56

A

審査請求 未請求 請求項の数10 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願平6-229348

(22) 出願日 平成6年(1994)9月26日

(71) 出願人 000226998

日清製粉株式会社

東京都中央区日本橋小網町19番12号

(72) 発明者 吉 田 英 人

広島県東広島市鏡山1丁目4番1号 広島
大学工学部内

(72) 発明者 村 田 博

埼玉県入間郡大井町鶴ヶ岡5-3-1 日
清製粉株式会社生産技術研究所内

(72) 発明者 篠 田 栄 司

埼玉県入間郡大井町鶴ヶ岡5-3-1 日
清製粉株式会社生産技術研究所内

(74) 代理人 弁理士 渡辺 望穂 (外1名)

(54) 【発明の名称】 液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法

(57) 【要約】

【目的】 乾式充填法において、安価で簡易な設備で、簡便に充填でき、低耐圧のカラム容器が使用でき、使用時の取り扱いが簡易であって、しかも高密度かつ均一な充填を行うことができ、かつ高性能、特に湿式充填法によって得られる性能と同等あるいは同等以上の性能（特に、理論段数）を得ることができ、しかも繰り返し安定性の高い液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法。

【構成】 バルブを介してカラムに接続された粉体供給部に供給された充填剤粉体を、カラム内を真空状態にした後にバルブを開放して急速にカラム内に充填し、タッピングを行うことを繰り返してカラム全部に充填剤粉体を充填することにより、または、粉体供給フィーダーによって充填剤粉体をカラム内に連続的に充填する際にカラム中に充填する前に充填剤粉体を除電することにより、上記目的を達成する。

625,24,85,51

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】一端に開閉可能なバルブを有する粉体供給部に閉止した前記バルブを介してカラムの一端を接続し、

所定量の充填剤粉体を前記粉体供給部に仕込み、前記カラムの他端から吸引して前記カラム内を所定真空圧まで減圧した後、

前記バルブを瞬時に開放して前記粉体供給部から前記所定量の充填剤粉体を前記カラム内に充填し、

所定回のタッピングを行うことを前記充填剤粉体が前記カラム全体に充填されるまで繰り返すことを特徴とする液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法。

【請求項2】前記真空圧は、10kPa以下である請求項1に記載の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法。

【請求項3】前記充填剤粉体の1回当たりの充填量は、繰り返される充填回数に応じて決定される請求項1または2に記載の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法。

【請求項4】前記充填は、恒温室内で行われる1～3のいずれかに記載の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法。

【請求項5】前記充填剤粉体は、充填剤粉体基材表面に超微粒子粉末を担持してなる請求項1～4のいずれかに記載の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法。

【請求項6】充填剤粉体を除電した後にカラム中に充填することを特徴とする液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法。

【請求項7】前記充填剤粉体の除電は、イオン風によって行う請求項6に記載の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法。

【請求項8】前記カラム内の空気を前記カラムの他端から吸引する請求項6または7に記載の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法。

【請求項9】前記充填は、恒温室内で行われる請求項6～8のいずれかに記載の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法。

【請求項10】前記充填剤粉体は、充填剤粉体基材表面に超微粒子粉末を担持してなる請求項6～9のいずれかに記載の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、液体クロマトグラフィーの分離カラムに乾式で充填剤を充填する方法に関し、詳しくは簡易な操作で均一でよく圧密化された固定相を実現し、高い繰り返し安定性で、高理論段数を得ることができる液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法に関する。

【0002】

【従来の技術】混合物からの純粋な物質の単離や混合物

2

の分離手段として、クロマトグラフィーを用いた、いわゆる分取クロマトグラフィーが各種適用されており、中でも比較的分解しやすい物質の分離が可能である点で、液体クロマトグラフィー、特に高速液体クロマトグラフィー（HPLC）が工業用途を始めとする各種の用途に適用されている。

【0003】このような液体クロマトグラフィーにおいて、混合物からの優れた単体の分離に際し、より高い理論段数（良好な理論段相当高さ＝HETP）を実現するためには、カラムに充填される充填剤を、均一に、かつよく圧密化された状態とする必要がある。

【0004】カラムは使用者自ら充填剤を充填するか、あるいは市場に供給されるプレバックドカラムを購入することにより利用することができる。しかし、使用者が充填する場合には特有のノウハウや付帯設備を必要とし、再現性のよいカラムを得ることは難しい。また、使用者が充填を簡便に行えるように作成された自己充填機能付きカラムがあるが、これは非常に高価であり、工業的な使用は著しく制限される。他方、市場に供給されるプレバックドカラムも非常に高価である。

【0005】カラムに充填剤を充填する方法としては、主に、充填剤を適当な溶媒に分散させスラリー状態でカラムに充填した後、ポンプ等を用いて前記溶媒を更に加圧送液することにより充填剤を圧密化する湿式充填法と、充填剤をカラムに小量づつ入れながらタッピング等を行なう乾式充填法とが行なわれている。

【0006】乾式充填法は、一般に、作業性、安全性には優れているものの、得られる理論段数は低いために、高理論段数が要求される場合には、湿式充填法が用いられている。しかしながら、湿式充填法は高理論段数は得られやすいが、高圧ポンプ等の大がかりな設備が必要であり、多量の分散溶剤（分散媒）、洗浄溶剤も必要で使用时に溶剤、分散媒の置換、除去等が大変であり、その取り扱いが面倒であり、また、充填の際に50～200kg/cm²程度の高圧が必要となるため、高耐圧構造のカラム容器が必要となり、その結果高価なものになってしまうという問題点がある。

【0007】そのため、使用者自らであっても簡便に高理論段数のカラムの充填を行うことができる液体クロマトグラフィー用カラムの開発が望まれている。

【0008】このため、本出願人は、特開平5-107237号公報において、シリカゲル等の基材の表面に超微粒子粉末を、好ましくは基材100重量部に対して0.01～4重量部担持してなる液体クロマトグラフィー用充填剤およびこの充填剤を乾式充填法により充填してなる液体クロマトグラフィー用カラムを提案している。ここに開示された充填剤を用いることにより、流動性が良好で、乾式充填法によるカラムへの高密度かつ均一な充填を容易かつ良好に行うことができ、得られたカラムは高理論段数を実現できる。

【0009】しかしながら、ここに開示されたカラムは充填剤自体の改良によって高い性能、例えば高充填率、高理論段数を得ているが、その充填方法自体は、従来の乾式充填法であって、カラムに充填剤を少量づつ入れながらタッピングを行うものにすぎず、充填方法自体の改善が強く求められている。また、上述したように湿式充填法に比べると、乾式充填法は、一般に得られる性能（特に、理論段数）が低いため、従来の充填剤を用いる場合であっても湿式充填法と同等あるいは同等以上の性能（特に、理論段数）が得られる乾式充填法の開発が強く望まれている。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、前記従来技術の問題点を解消し、乾式充填法において、安価で簡易な設備で、簡便に充填でき、低耐圧のカラム容器が使用でき、使用時の取り扱いが簡易であって、しかも高密度かつ均一な充填を行うことができ、かつ高性能、特に湿式充填法によって得られる性能と同等あるいは同等以上の性能（特に、理論段数）を得ることができ、しかも繰り返し安定性の高い液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法を提供するにある。

【0011】

・【課題を解決するための手段】前記目的を達成するために、本発明の第1の態様は、一端に開閉可能なバルブを有する粉体供給部に閉止した前記バルブを介してカラムの一端を接続し、所定量の充填剤粉体を前記粉体供給部に仕込み、前記カラムの他端から吸引して前記カラム内を所定真空圧まで減圧した後、前記バルブを瞬時に開放して前記粉体供給部から前記所定量の充填剤粉体を前記カラム内に充填し、所定回のタッピングを行うことを前記充填剤粉体が前記カラム全体に充填されるまで繰り返すことを特徴とする液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法を提供するものである。

【0012】ここで、前記真空圧は、10kPa以下であるのが好ましい。また、前記充填剤粉体の1回当たりの充填量は、繰り返される充填回数に応じて決定されるのが好ましい。また、前記充填は、恒温室内で行われるのが好ましい。また、前記充填剤粉体は、充填剤粉体基材表面に超微粒子粉末を担持してなるのが好ましい。

【0013】また、本発明の第2の態様は、充填剤粉体を除電した後にカラム中に充填することを特徴とする液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法を提供するものである。

【0014】ここで、前記充填剤粉体の除電は、イオン風によって行うのが好ましい。また、前記カラム内の空気を前記カラムの他端から吸引するのが好ましい。また、前記充填は、恒温室内で行われるのが好ましい。また、前記充填剤粉体を充填する速度は、充填高さで1～10cm/minであるのが好ましい。また、前記充填剤粉体は、充填剤粉体基材表面に超微粒子粉末を担持し

てなるのが好ましい。

【0015】

【作用】本発明の第1の態様の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法は、バルブを介してカラムの一端に設けられた粉体供給部に所定量、好ましくは分割充填回数に応じた充填量のカラム充填剤粉体を充填するとともにカラムの他端から真空ポンプ等によってカラム内の空気などのガスを吸引し、カラム内を所定圧力の真空状態、好ましくは10kPa以下の真空圧まで減圧し、バルブを開放して粉体供給部内の充填剤粉体をカラム内に急速に詰め込んだ後、所定回のタッピングを行なうカラム充填剤粉体充填を分割充填回数（繰り返し回数）だけ繰り返して、所定量の充填剤をカラム全体に完全に充填する方法（分割真空充填法）である。

【0016】本発明の第2の態様の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法は、カラムの一端からフィーダーを用いて、好ましくはカラムの他端から空気などのガスを吸引しつつ、充填剤粉体を、カラム直前でイオン風によって除電した後、カラム中に、好ましくは充填高さで1～10cm/minの充填速度で完全かつ十分に充填する方法（流通充填法）である。いずれの充填法においても恒温室内で充填剤粉体の充填を行うのが好ましい。また、いずれにおいても充填剤粉体は、充填剤粉体基材表面に超微粒子粉末を、より好ましくは、基材100重量部に対して超微粒子粉末0.01～4重量部担持してなるのが好ましい。

【0017】従って、本発明によれば、真空状態のカラムに充填剤粉体を急速に充填することを分割回数だけ繰り返すことによりあるいはカラムに充填する前に充填剤粉体をイオン風によって除電して、粉体の電荷を緩和除去することにより、高密度かつ均一な充填が可能となり、簡便な乾式充填にもかかわらず、湿式充填法と同等または同等以上の性能、特に高理論段数を得ることができる。

【0018】以下に、本発明に係る液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法を添付の図面を参照して詳細に説明する。図1(a)は本発明の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法を実施するカラム充填装置の正面模式図であり、図1(b)は図1(a)に示すカラム充填装置のイオン風送入口のB-B線切断断面図である。

【0019】図1(a)に示すカラム充填装置10は、本発明の分割真空充填法および流通充填法による液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法を実施する装置であって、粉体供給部12と、バルブ14と、粉体供給部ジョイント16と、イオン風送入口18と、カラム22の両端に取り付けられるカラムジョイント20、20と、ポンプジョイント24とからなり、ポンプジョイント24は真空ポンプ26に接続され、イオン風送入口18はイオナイザー28およびフィーダー30に接続され、イオナイザー28は送風機32に接続される。

【0020】粉体供給部12の上端には拡張した逆円錐状の開口部12aが設けられ、その下側にはバルブ14が組み込まれる。粉体供給部12の下端部が粉体供給部ジョイント16によって気密に締め付けられ、カラム22の上端部が粉体供給部ジョイント16とユニット化されたカラムジョイント20によって気密に締め付けられることにより、粉体供給部12とカラム22とが気密に接続される。

【0021】一方、カラム22の下端部はポンプジョイント24とユニット化されたもう1つのカラムジョイント20によって締め付けられ、気密に接続される。ポンプジョイント24は真空ポンプ26に接続するためのものである。また、粉体供給部ジョイント16の外側にはイオン風送部18が取り付けられる。イオン風送部18は、図1(b)に示すように円環状をなし、接線方向に逆向きに平行な送入口を有し、その先端にイオン風送入口18a、18aを有し、これらの送入口18a、18aはイオン風を生成するイオナイザー28の送出口に輸送管によって接続される。イオナイザー28の送出口とイオン風送部18の送入口18a、18aとの間の輸送管には粉体供給フィーダー30の送出管が接続される。さらにイオナイザー28には送風機32が接続され、所定風量の空気が送風機32によってイオナイザー28に送風される。

【0022】なお、イオナイザー28としては、空気をイオン化できればどのようなものでもよく、市販のイオン化エアージェン、イオン化エアークラウドなどを用いることができる。例えば、イオン化エアージェンMODEL-300、MODEL-301、MODEL-312(いずれも、ヒューグルエレクトロニクス(株)製)、パルスガンPG-5(大坪電気(株)製)トップガンII(ES型、HBA型、シムコジャパン(株)製)などを挙げることができる。また粉体供給フィーダー30としては、特に制限はなく市販の粉体供給フィーダーを用いることができるが、例えば、フィードコンミュー(FCM-030F、FCM-200F、日清エンジニアリング(株)製)などを挙げることができる。

【0023】図示例のカラム充填装置10は、本発明の第1の態様の分割真空充填法による液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法と本発明の第2の態様の流通充填法による液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法との両方に用いることができるが、分割真空充填法においては、イオン風送部18を設けず、充填剤粉体へのイオン風の供給を行わなくてもよいし、流通充填法においては、バルブ14付の粉体供給部12を取り付けなくてもよい。

【0024】本発明において用いられる液体クロマトグラフィー用充填剤粉体(以下、充填剤という)は、シリカゲル等の充填剤粉体基材のみから構成されるものでもよいが、本出願人が特開平5-107237号公報に提

案したように、充填剤粉体基材の表面に超微粒子シリカ等の超微粒子粉末を担持してなる構成を有するのが好ましい。

【0025】基材としては、シリカゲル等、通常の液体クロマトグラフィー用の充填剤として用いられるものがいずれも適用可能であるが、好ましくは平均粒径20~100μm程度、より好ましくは平均粒径20~60μm程度のものが好適に適用される。なお、形状は球形であってもよく、あるいは破砕形であってもよい。このような基材としては、具体的には、シリカゲルとしてのマイクロビーズシリカ、BWシリカ(以上、富士デビソン化学(株)製)、S-50シリカ(ヤマムラ化学社製)、MS-GEL(洞海化学社製)等が好適に例示される。

【0026】本発明に使用される充填剤は、好ましくはこのような基材の表面に、超微粒子粉末、特に超微粒子シリカを、好ましくは均一にコーティングした状態に担持してなるものである。なお、本発明において、超微粒子とは粒径が100nm以下であることを示す。本発明においては、このような構成の充填剤を用い、本発明の充填方法と組み合わせることにより、カラム中の充填剤の充填密度を容易に均一で高密度化することを可能とし、それにより、高い理論段数を得られる液体クロマトグラフィー用カラムを実現可能としたものである。

【0027】適用される超微粒子シリカの粒径は、上記条件を満たすものであれば特に限定はないが、好ましくは、5~60nm程度、より好ましくは10~60nm程度である。上記粒径を有する超微粒子シリカを適用することにより、充填剤の流動性が良好になり、充填密度が増し、カラム内部の粒子充填密度が均一化する。また、高理論段数を実現するためには、適用する超微粒子シリカは高純度であるものが好ましく、少なくとも90%以上、好ましくは99.8%以上の純度を有するものであるのが良い。このような超微粒子シリカとしては、具体的には、AEROSIL 130、AEROSIL 200、AEROSIL 300、AEROSIL 380、RY200、R972、R20等が好適に例示される。

【0028】なお、本発明においては、このような超微粒子シリカ以外にも、超微粒子チタン、超微粒子アルミニウム等も好適に適用可能である。このような超微粒子チタンとしては、具体的にはTitanium Oxide P25(日本アエロジル社製)、超微粒子アルミニウムとしてはAluminum Oxide C(日本アエロジル社製)等が例示される。

【0029】超微粒子シリカの担持量にも特に限定はなく、シリカゲルの表面全体に均一に超微粒子シリカをコーティングした状態とできればよいが、好ましくは、シリカゲル100重量部に対して0.01~4重量部程度、より好ましくは0.05~2重量部程度である。

【0030】シリカゲル表面に超微粒子シリカを担持さ

せる方法には特に限定はなく、適用するシリカゲルや超微粒子シリカに応じた公知の方法を適用すればよいが、一例として、適当量の両者を傾斜式球形ミキサーに充填し、このミキサーを2000~4000rpm程度の速度で、5分程度回転させる方法等が例示される。

【0031】本発明に使用される液体クロマトグラフィー用カラム容器（以下、単にカラムという）22は、上述した充填剤を充填するためのもので、円筒状等の形状を有する。カラムの形状は通常円筒状であるが、特に制限はなく、そのサイズも用途に応じて適宜設定すればよく、特に限定はない。また、材質もステンレス、硬質ガラス等、通常のHPLC用カラムに用いられる物がいずれも適用可能である。

【0032】本発明に用いられるカラム充填装置、カラムおよび充填剤は、基本的に以上のように構成されるが、その作用および本発明の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法について詳細に説明する。

【0033】最初に、本発明の第1の態様のカラム充填方法である真空充填法について説明する。

(1) まず、粉体供給部12を粉体供給部ジョイント16で気密に取り付け、カラム22を除いて図1(a)に示すカラム充填装置10を組み立てる。この時、イオン風送部18は取り外しておいてよい。ここで、十分に洗浄乾燥させたカラム22の上端をカラムジョイント20、20で気密に締め付けることによりカラム22をカラム充填装置10に組み込む。なお、この時、バルブ14は閉めた状態にしておく。なお、カラム充填装置10に組み込む前に、カラム22とフィルターを含むカラムエンドアッセンブリとを組み立て、この組立カラム22の空重量を電子天秤で測定しておくのがよい。

【0034】(2) 組み終えたカラム充填装置10を恒温室（図示せず）内に入れ、ポンプジョイント24に真空ポンプ26を接続する。試料充填剤粉体は、図示しない恒温室内において十分調整したものを分割回数に合わせて1回の粉体充填量を決め、粉体供給部12に仕込んだ後、真空ポンプ26でカラム22内を所定時間、例えば1~3分、真空ポンプ26の能力や真空圧によっては30分間吸引する。ここで、真空ポンプ26による吸引は、カラム22内の圧力が所定真空圧、好ましくは、10kPa以下になるまで行うのが好ましい。その理由は、空気の粘性を十分に小さくするためである。また、1回の充填量は、全充填量を分割回数に応じて分割した量であれば良く、毎回均一であっても、不均一であってもよいが、1回の充填量は、カラム22の大きさによって決めるのが好ましく、より好ましくは、充填高さ5~20mmに相当する量が適量である。分割数を多くすれば、理論段数は向上するが、操作性は悪くなるからである。従って、カラム22の大きさから1回の充填量を決め、全充填量を充填する分割回数を定めるのがよい。

【0035】(3) カラム22内の圧力が所定真空圧に

なっていることを、例えばインジケータ（圧力計）や真空ゲージ等で確認後、素早くバルブ14を開放し、充填剤粉体をカラム22内に急速に充填する。なお、真空圧に達していないあるいは達しない場合には、再度、カラム充填装置10を組み直して漏れがないことを確認し、再び真空ポンプ26でカラム22内を吸引する。

(4) この後、真空ポンプを取り外し、カラム22のタッピング所定回数を行う。例えば、タッピングは、2cmの高さで約20回繰り返すのが好ましい。これは、適度な衝撃を与えるために2cm程度の高さが適当であるのと、20回程のタッピングで、充填密度がほぼ最大定常に漸近するという理由による。

【0036】(5) この分割充填（上記(2)~(4)）を分割した回数だけ繰り返す。所定分割回数の分割充填を行って、カラム22の上部まで充填剤粉体が充填された後、粉体供給部ジョイント16とユニット化された上部のカラムジョイント20を外し、カラム22の上部を例えばカッターナイフ等で擦り切り、平らにならした後、図示しないフィルターを含むカラムエンドアッセンブリを取り付ける。この後、カラム22を逆にし、ポンプジョイント26とユニット化されたカラムジョイント20を取り外し、同様に擦り切った後図示しないフィルターを含むカラムエンドアッセンブリを取り付ける。なおこの時、カラム22とフィルタとの間に充填剤粉体が挟まらないように気を付けるのがよい。ところで、下側のカラムジョイント20の代わりにフィルターを内蔵するカラムエンドアッセンブリをカラム22に取り付けたまま用いてもよい。この場合には、取り外し可能なポンプジョイント24をカラムエンドアッセンブリの配管接続口に直接接すればよい。この場合には、充填剤粉体をカラム22の上部まで充填後、上側のカラムジョイント20を外してカラム22の上部を平らにした後、カラム22の上部のみにフィルター付カラムエンドアッセンブリを取り付ければよい。こうすることで、カラム充填（カラム製造）操作を簡略化できる。

【0037】(6) 充填し終えたカラム22は、再度、電子天秤で重量を測定し、(1)で測定した空重量を引き、充填された充填剤粉体の重量とカラム容積から充填率を算出する。

(7) 充填したカラムを高速液体クロマトグラフィーに取り付け、その応答波形から理論段数を算出する。こうして高性能、特に理論段数および充填率の高いカラムを得ることができる。

【0038】このような本発明の第1の態様の分割真空充填法によって充填剤粉体が充填されたカラムが高い性能、特に高い理論段数を示すのは、以下の理由によるものと考えられる。一般に高い理論段数を得るには粒子径の小さい充填剤粉体を用いる必要があるが、従来の乾式充填法では、充填剤粉体が空気を抱き込んでしまい高密度の充填を行うことができなかったが、本発明の分割真

空充填法では、充填を真空中で行うことにより、空気の粘性の影響を排除できるためであると考えられる。また多数回に分割して充填することにより、充填率がカラム内部でより均一になるため理論段数が向上するものと考えられる。

【0039】上述した例では、恒温室を使用し、恒温恒湿雰囲気中で充填しているが、本発明はこれに限定されるわけではない。また、分割真空充填 1 回当たりの充填量、真空引きの時間などは、上述した例に限定されず、カラムの大きさや分割回数および真空ポンプ 26 の能力や達成すべき真空圧に応じて、さらにはその他の必要に応じて適宜選択すればよい。なお、上述した例では、イオン風送入口 18 を取り外しているが、予め生成させたイオン風中に粉体を供給し、これによって除電された充填剤粉体を用いて真空充填するようにしてもよい。もちろん、他の方法で充填剤粉体を除電してもよい。

【0040】次に、本発明の第 2 の態様のカラム充填方法である流通充填法について説明する。まず、粉体供給部 12 を粉体供給部ジョイント 16 で気密に取り付け、このジョイント 16 にはイオン風送入口 18 を取り付け、カラム 22 を除いて図 1 (a) に示すカラム充填装置 10 を組み立てる。ここで十分に乾燥させたカラム 22 を前述したようにカラムジョイント 20、20 を使ってカラム充填装置 10 に組み込む。なお、前述したようにカラム充填装置 10 への組み込み前に図示しないフィルターを含むカラムエンドアッセンブリとカラム 22 との組立体の空重量を測定しておくのがよい。

【0041】次に、組み終えたカラム充填装置 10 を図示しない恒温室内に入れ、図 1 (b) に示すように、イオン風送入口 18 の送入口 18a、18a に送風機 32 が接続されたイオナイザー 28 および粉体供給フィーダー 30 を接続し、ポンプジョイント 24 に真空ポンプ 26 を接続する。この後真空ポンプ 26 でカラム 22 の下端から吸引するとともに送風機 32 から送風された空気流をイオナイザー 28 でイオン化させて発生させたイオン風をフィーダー 30 によって供給された、図示しない恒温室内で十分調整した試料充填剤粉体に混合し、この混合物を送入口 18a、18a からイオン風送入口 18 に連続的に導入し、カラム 22 中に混合物を供給し、充填剤粉体を粉体供給量（充填速度）充填高さで 1~10 cm/min、例えば重量で 1.3 g/min で充填する。なお、イオン風は主にカラム 22 の下端から真空ポンプ 26 によって吸引されるが、イオン風の風量が多い場合には、バルブ 12 を開放し、イオン風送入口 18 の上部の粉体供給部 12 の開口 12a から排出させてもよい。こうして、カラム 22 には、イオン風によって除電された直後の充填剤粉体が充填される。

【0042】このようにして充填剤粉体をカラム 22 の上部まで充填させた後、タッピングを 2 cm の高さで約 20 回繰り返した。この後、前述の分割真空充填法の

(5) と同様にして片方ずつカラムジョイント 20、20 を外し、カラム 22 の両端にフィルタを含むカラムエンドアッセンブリを取り付け、同 (6) および (7) と同様にして充填カラム 22 の充填率および理論段数を算出する。こうして、高性能、特に理論段数および充填率の高いカラムを得ることができる。

【0043】このような本発明の第 2 の態様の流通充填法によって充填剤粉体が充填されたカラムが高い性能、特に高い理論段数を示すのは、イオン風を導入することによって、充填剤粉体の電荷を緩和でき、均一な充填が可能とし、高い充填率を得ることができるからである。

【0044】ここで、イオン風の供給量は 20~100 l/min であるのがよいが、より好ましくは少ない方がよい。その理由は真空ポンプ 26 により吸引できる風量に規定されるからである。また、カラム 22 への充填剤粉体の充填速度は特に制限的ではないが、カラム 22 への充填高さで 10~100 mm/min であるのが好ましい。その理由は粒子が十分に除電される程度の量であればよいからである。また、上述した例では、カラム 22 への粉体充填に際し、カラム 22 の下端から真空ポンプ 26 で吸引しているけれども、本発明はこれに限定されず、必ずしも吸引を行う必要はない。また、上述した例では、恒温室を使用し、恒温恒湿雰囲気中で充填を行っているが、本発明はこれに限定されるわけではない。ところで、上述した例では、イオン風送入口 18 にイオナイザー 28 からのイオン風と粉体供給フィーダー 30 から供給される充填剤粉体との混合物を供給しているけれども、本発明はこれに限定されず、粉体供給部 12 に粉体供給フィーダー 30 を接続し、充填剤粉体は粉体供給部 12 から供給し、イオン風送入口 18 にはイオナイザー 28 からのイオン風のみを導入し、両者を粉体供給部ジョイント 16 および/または上部カラムジョイント 20 において混合して、カラム 22 中に供給するようにしてもよい。

【0045】

【実施例】以下に、本発明の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法を実施例に基づいて具体的に説明する。

（実施例 1）図 1 (a) に示すカラム充填装置 10 を用いて、本発明の第 1 の態様の分割真空充填法によって、すなわち前述した (1) ~ (5) の工程を行って分割回数を 1 回、2 回、3 回、4 回、8 回、12 回および 16 回に変えてカラム 22 に試料充填剤粉体を充填した。なお、イオン風送入口 18 は用いなかった。本実施例では、真空ポンプ 26 による真空引きの時間は 30 分、真空ケーシングによる真空圧のチェックは 10 kPa であることを確認することで行った。また、タッピングは 2 cm の高さで、約 20 回繰り返した。さらに、充填に際して温度、湿度の影響をなくすために用いた恒温恒湿室内の雰囲気は温度 25℃、相対湿度 50 RH% とした。

【0046】ここで用いたカラム22は、(株) YMC製カラムで、その直径は10mm、高さは100mmであった。ここで、試料充填剤粉体は、シリカゲル(SiO₂)で質量中位径47.5μm(MB4B、富士デビソン化学(株)製)と質量中位径0.15μm(Aerosil 200、日本アエロジル(株)製)の両者を混合機を用いて混合比0.5%の重量比(微粉質量/粗粉質量)で混合攪拌し、表面処理したものを用いた。混合機(日清エンジニアリング社製、Hi-X200)の操作条件は、インペラー回転数4000rpm、混合槽傾斜角45deg、混合時間20minとした。

【0047】こうして得られた充填カラムを液体クロマトグラフィー装置(L-6000、L-4200、日立社製)に設置し、移動相としての酢酸エチル(15%)、ヘキサン(85%)の溶液中に、フタル酸ジメチル3%、ベンゼン3%、ヘキサン94%の溶液を100μl注入し、図4に示すようなクロマトグラムを得、滞留時間t_Rおよび半値幅W_bを実測して、理論段数Nを下記式の半値幅法により求めた。

$$\text{理論段数 } N = (t_R / \sigma)^2 = 5.54 \times (t_R / W_b)^2 \quad 20$$

ここで、σは正規分布による標準偏差である。

【0048】こうして得られた結果を図2に示す。同図から明らかなように分割回数が増加するにつれて、理論段数も増加してきているのが分かる。この結果より、多数回に分割して充填することにより、充填率がカラム内部でより均一になるため理論段数が向上したことが分かる。

【0049】(実施例2)図1(a)に示すカラム充填装置10を用いて、本発明の第2の態様の流通充填法によって前述した手順でカラム22に試料充填剤粉体を充填した。ここで、イオナイザー28によるイオン風の風量は20l/minであった。カラム22の末端から真空ポンプ26による吸引を行った。フィーダーによる粉

体供給部12からカラム22への充填剤粉体の充填速度は1.3g/minであった。カラム22は実施例1と同様、直径10mm、高さ100mmのものを用い、充填後のタッピングも実施例1と同様に2cmの高さで約20回行った。ここで、試料充填剤粉体は、実施例1と同様にして微粉で表面処理したシリカゲル(SiO₂)を調整したが、混合比を0.25~2.0%重量比の範囲で変えた数種の充填剤粉体を用いた。恒温恒湿室内の雰囲気は実施例1と同様にした。

【0050】こうして得られた充填カラムを実施例1と同様にして理論段数Nを求めた。得られた結果を各混合比に対する理論段数として図3に示す。同図から明かなように、イオナイザーを使用してイオン風で除電した場合も、イオナイザーを用いないで除電しなかった場合も混合比0.5%でピークを持つが、イオン風を導入した場合はイオン風を導入しなかった場合に比べ理論段数が高く、混合比が増加するにつれてより高くなることが分かる。この結果、イオン風を導入することにより、粉体の電荷を緩和でき、充填率を向上させ、理論段数を向上させることができることが分かる。

【0051】(実施例3)図1(a)に示すカラム充填装置10を用い、実施例1と同様に分割真空充填法によって試料粉体をカラムに充填し、測定して理論段数を求めた。分割回数は8回および12回とした。また、用いたカラムは直径10mm、高さ100mmのものと、直径10mm、高さ150mmのものを用いた。ここでは、試料充填剤粉体として、平均粒径D₅₀≒40μmのシリカゲル(MB4B、富士デビソン化学(株)製)を微粉による表面処理をせずにそのまま用いた。また比較のため、従来の乾式タッピング充填法によって充填した市販の直径10mm、高さ150mmの充填カラムの理論段数を測定した。これらの結果を表1に示す。

【0052】

【表1】

表 1

No.	従来カラム(150mm)		真空充填8回(150mm)		真空充填8回(100mm)		真空充填12回(100mm)	
	150mm	10mm当り	150mm	10mm当り	100mm	10mm当り	100mm	10mm当り
1	719.81	47.99	901.48	60.10	552.54	55.25	665.16	66.52
2	629.21	41.95	954.03	63.60	494.79	49.48	646.11	64.61
3	775.51	51.70			578.11	57.81	663.56	66.36
4	377.74	25.18			565.14	56.51	682.81	68.28
\bar{N}	625.57	41.71	925.75	61.85	547.65	54.76	664.41	66.44
σ		10.16		1.75		3.18		1.30

13

【0053】表1から明らかなように、従来の大気圧充填およびタッピングを行う乾式充填法による市販カラムは、理論段数のばらつきが大きく、相対的に低い理論段数を示しているのに対し、本発明の8回分割真空充填法による同一寸法の充填カラムは高い理論段数を示し、そのばらつきも小さいことがわかる。また、本発明の分割真空充填法による充填カラムは、分割回数が多いほど、より高い理論段数を示し、カラムの高さが変わっても、単位長さ当りの理論段数は高くなり、かつそのばらつきも小さくなることがわかる。

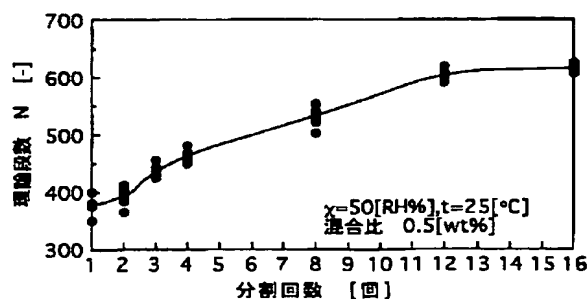
【0054】以上、本発明の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法について詳細に説明したが、本発明はこれに限定されるものではなく、例えば、充填の際に、充填剤の表面にアルコール等を噴霧して充填剤の流動性を向上する等、公知の各種の操作を行ってもよいなど、本発明の要旨を逸脱しない範囲において、各種の変更および改良を行ってもよいのはもちろんである。

【0055】

【発明の効果】以上詳細に説明したように、本発明によれば、湿式充填のように大がかりで複雑な設備が不要で、安価で簡易な設備で簡単に充填でき、低耐圧のカラム容器を使用でき、溶剤を使用しないので使用時の取り扱いが容易であるにもかかわらず、従来の乾式充填に比べて高く、湿式充填と同等もしくは同等以上の性能（特に、理論段数、充填率など）を得ることができ、得られた性能（特に、理論段数）のばらつきも小さく繰り返し安定性が高いという効果を奏する。

【図面の簡単な説明】

【図2】



14

【図1】 (a)は本発明の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法を実施するカラム充填装置の一実施例の正面図であり、(b)は(a)のB-B線断面図である。

【図2】 本発明の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法の実施例1の分割真空充填法における分割回数と理論段数の関係を示すグラフである。

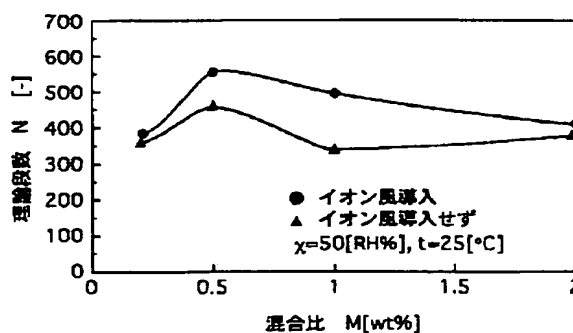
【図3】 本発明の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法の実施例2の流通充填法における混合比と理論段数の関係を示すグラフである。

【図4】 本発明の液体クロマトグラフィー用カラムの充填方法の実施例において理論段数を求めるのに用いられるクロマトグラムの一例である。

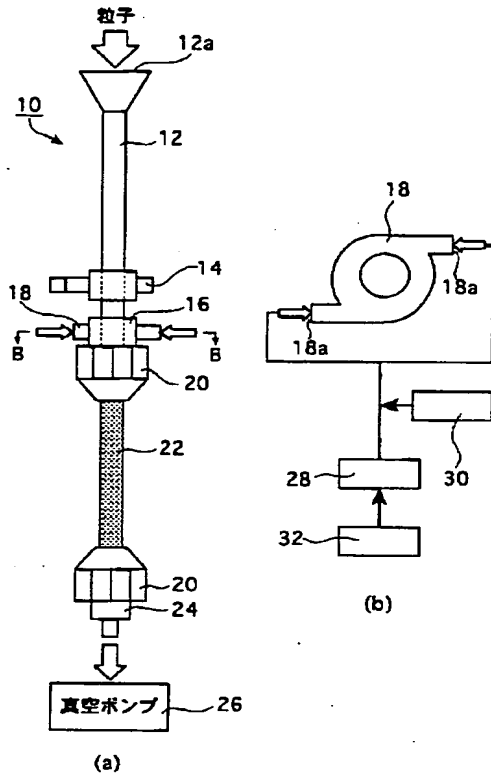
【符号の説明】

- 10 カラム充填装置
- 12 粉体供給部
- 12a 供給口
- 14 バルブ
- 16 粉体供給部ジョイント
- 18 イオン風送入口
- 18a 送入口
- 20 カラムジョイント
- 22 カラム
- 24 ポンプジョイント
- 26 真空ポンプ
- 28 イオナイザー
- 30 粉体供給フィーダー
- 32 送風機

【図3】



【図1】



【図4】

